

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института  
теоретической и экспериментальной  
биофизики Российской академии наук  
(ИТЭБ РАН)



к.ф.-м.н. Селезнева Ирина Ивановна

«14» мая 2023 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Колевой Ларисы «Эритроциты-биореакторы для утилизации из кровотока низкомолекулярных метаболитов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

**Актуальность темы** рецензируемой работы обусловлена острой необходимостью повышения эффективности современной терапии, во-первых, острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) путем пролонгирования функциональной активности вводимой в кровотоки аспарагиназы и, во вторых, надобности в надежной ликвидации избытка аммония, токсического метаболита, накоплением которого сопровождаются токсические и вирусные поражения печени и уремия. Для этого автор диссертационной работы разрабатывает и использует новый тип ферментативных контейнеров – эритроциты как биореакторы (ЭБР), способные удалять из плазмы низкомолекулярные метаболиты. ЭБР, удаляющие из плазмы аспарагин, содержат длительно функционирующий фермент аспарагиназу (фармакоциты), а ЭБР, элиминирующие из кровотока избыток аммония (аммоциты), имеют два дополнительных сопряженно функционирующих фермента глутаматдегидрогеназу (ГДГ) и аланинаминотрансферазу (АЛТ). Эти два фермента формируют новый метаболический путь, решающий проблему воспроизведения  $\alpha$ -кетоглутарата и глутамата. В необходимости уборки указанных метаболитов и заключается актуальность и высокая ценность по сути прорывного наукоемкого

технологического подхода к модификации современной терапии в области онкологии и гепатологии.

### **Общая характеристика и структура диссертационной работы**

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, написана хорошим стилем, содержит все необходимые сведения для четкого восприятия существа и большинства деталей выполненного исследования. Введение дает краткое и ясное представление об актуальности, целях, задачах и достижениях диссертантки, представляемых на защиту. Кстати, не понятно, почему Колева Л.Д. обозначает себя на титульном листе только по имени без отчества.

Литературный обзор исчерпывающим образом вводит читателя в существо и все ключевые детали проблемы в целом, благодаря чему понятна и актуальности и цели: «Создание эффективных эритроцитов-биореакторов для удаления из кровотока низкомолекулярных метаболитов: аспарагина (для лечения ОЛЛ и некоторых других онкологических заболеваний) и аммония (для лечения гипераммониемии)». Для достижения этой цели весьма толково и логично сформулированы задачи работы. Описание материалов и методов в диссертации не вызывает каких либо нареканий, поскольку избранные методические подходы в полной мере позволяют решать поставленные задачи. Однако в автореферате есть, на мой взгляд, некоторые проблемы с описанием материалов и методов, которых я коснусь далее. Полученные результаты и обсуждение представлены на высоком уровне, хорошо проиллюстрированы. Заключение и выводы отражают существо представленных результатов и дают ответы на вопросы, поставленные в задачах исследования. Список цитированной литературы состоит из 193 источников. Приятно было встретить в нем наряду с исчерпывающим цитированием зарубежных источников полноценные ссылки на работы по ЭБР, в частности, по амоцитам, выполненные в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН. По результатам диссертационной работы опубликовано 7 статей в высоко рейтинговых рецензируемых научных журналах, более 14 работ представлены в трудах конференций и съездов, получен 1 патент на изобретение. Хотелось бы сказать, что диссертационная работа Колевой Л.Д. представлена в стандартном виде. Но реально и по сути, и по объему, и по результатам это две полноценные диссертационные работы, объединенных единым методологическим и методическим подходом.

**Научная новизна и практическая значимость результатов рецензируемой работы несомненны.** Впервые удалось решить две долгое время никем нерешенные проблемы. Автору удалось избрать на основе объективного теоретического и экспериментального анализа метод включения активной и сохраняющей свою активность аспарагиназы в эритроциты человека. При этом сохранив в значительной мере их собственную функциональную активность и даже способность к самостоятельному восстановлению физико-химических характеристик после ряда процедур обработки. Причем созданная замкнутая автоматизированная система получения фармацитов – это, пожалуй, единственный надежный путь получения стерильного и апиrogenного препарата, что и обеспечило в значительной степени возможность успешного внедрения его в клиническую практику. Работа по амоцитам фактически является завершенным научным исследованием, готовым к дальнейшему продвижению в практику здравоохранения. На сегодняшний день переоценить фундаментальную значимость и практическую ценность представленных результатов просто невозможно. Это то, что востребовано и сделано на высоком современном уровне.

**Достоверность и обоснованность результатов исследования** полноценно аргументированы и хорошо проиллюстрированы. Не вызывают никаких сомнений.

#### **Замечания и вопросы.**

Первый вопрос уже прозвучал: где отчество диссертантки. Второй касается отсутствия в автореферате описания самого объекта. Не упомянуто: какие эритроциты брали, в каком объеме, сколько требуется для введения и каким образом следует вводить. В тексте диссертации все это есть, в автореферате упущено. А ведь это очень важно. В этом тоже большое достижение: берется малый объем, можно брать аутокровь - для практики чрезвычайно важные характеристики.

Плохо описана в автореферате схема автоматизированной установки. Она «мертва», нет ни описания потоков, ни хотя бы стрелок-указателей, куда потоки жидкостей движутся. Например, цикл из мешка 2 в мешок 2 по этой схеме не проследить.

Не ясно ограничения работы нового для эритроцитов пути связывания аммония. Как долго может существовать цикл уборки аммония? Воспроизводятся два необходимых субстрата глутамат и  $\alpha$ -кетоглутарат. Но расходуются восстановленные NAD(P)H и

пируват. Выходит наружу аланин. Не увидел граничных условий существования цикла обезвреживания аммония.

Эти замечания, конечно, ни коим образом не умаляют огромную ценность работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Колевой Л. на тему «Эритроциты-биореакторы для утилизации из кровотока низкомолекулярных метаболитов» в полной мере соответствует критериям, установленным положением «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года (ред. от 18.03.2023 № 415), а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Отзыв на диссертационную работу Колевой Ларисы «Эритроциты-биореакторы для утилизации из кровотока низкомолекулярных метаболитов» обсужден на объединенном заседании секций «Биомедицина» и «Биоэнергетика» Ученого совета ИТЭБ РАН 17 мая 2023 года, протокол № 3.

Отзыв составил заведующий лабораторией  
Энергетики биологических систем ИТЭБ РАН,  
лауреат премии Правительства РФ в области науки  
и техники по направлению медицина,  
доктор медицинских наук по специальности «биохимия»,  
профессор по специальности «биофизика»

Маевский Евгений Ильич

Адрес: ИТЭБ РАН, ул. Институтская, 3, 142290, г. Пущино Московской области  
Телефон: +7 9161471110  
E-mail: eim11@mail.ru



Подпись: *Маевского Е. И.*  
УДОСТОВЕРЯЮ Зам. зав. ОДОУ  
*С. Г. БАКАНОВА*